

リンパ行性薬剤送達法を用いた転移リンパ節に対するフルオロウラシル治療に関する研究

著者	藤井 穂乃香
雑誌名	東北大学電通談話会記録
巻	87
号	1
ページ	370-371
発行年	2018-08
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123587

修士学位論文要約（平成30年3月）

リンパ行性薬剤送達法を用いた転移リンパ節に対するフルオロウラシル治療に関する研究

藤井 穂乃香

指導教員：小玉 哲也， 研究指導教員：小玉 哲也

A study of fluorouracil treatment for metastatic lymph nodes using lymphatic drug delivery system

Honoka FUJII

Supervisor: Tetsuya KODAMA, Research Advisor: Tetsuya KODAMA

About 90% of cancer deaths are due to metastasis, with lymph node metastasis (LNM) being induced before distant metastasis is evident. Systemic chemotherapy is one of the most commonly used treatments for LNM. However, side effects are a major problem due to the low tissue selectivity of cancer chemotherapy drugs. The lymphatic drug delivery system (LDDS) is a LN-specific therapy, which allows the injection of drugs directly into target metastatic LNs. It also can treat and prevent metastasis in downstream LNs by delivering drugs via the lymphatic vessels. Here, the injection rate of the LDDS was optimized. The drug deliverability to a downstream LN was dependent on the impulse value defined as the integral of injection pressure at an upstream LN. The distribution of fluorescent dye in downstream LNs was decreased with increasing the injection rates. The optimal injection rate of the LDDS was 10-80 $\mu\text{L}/\text{min}$.

1. はじめに

がん患者の死亡原因の9割は転移に起因する(1)。がんのリンパ節転移は多くの固形腫瘍において遠隔転移に先行して生じるが(2)，全身化学療法による転移リンパ節治療では副作用の問題が指摘されている。リンパ行性薬剤送達法 (LDDS) は，リンパ節に薬剤を直接注入することで標的となる転移リンパ節を治療するだけでなく，その下流側リンパ節をもリンパネットワークを介して転移の予防・治療を目指す手法である(3)。LDDSでは薬剤注入部位である上流側リンパ節への薬剤注入速度が，下流側リンパ節に対する薬剤送達能を規定すると考えられるが，注入速度に関する詳細な検討はこれまでなされてこなかった。本研究では，LDDSにおける至適注入速度を決定した。

2. 蛍光色素の下流側リンパ節における流動ダイナミクス

本研究室で樹立した，リンパ節腫脹マウス MXH10/Mo-*lpr/lpr*(4)の腸骨下リンパ節 (SiLN) に 0.5 mg/mL FITC 修飾トマトレクチン 200 μL を注入した。シリンジポンプを用いて 10, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ および bolus の一定速度で注入した。Bolus 投与は，シリンジポンプを用いて 2400 $\mu\text{L}/\text{min}$ の速度と定義した。図1に，SiLNの下流側に位置する固有腋窩リンパ節 (PALN) における，FITC 修飾トマトレクチン注入終了後の二次元カラーマッピング画像を示す。全ての注入速度で，SiLNに注入されたFITC

修飾トマトレクチンがリンパ管 (LV) を介して下流側の PALN に送達される所見が得られた。100 $\mu\text{L}/\text{min}$ では，SiLNに注入されたFITC修飾トマトレクチンが輸出リンパ管だけでなく胸腹壁静脈 (TEV) へ流出した。Bolus投与では，PALNへ送達されたFITC修飾トマトレクチンは僅かであった (黄矢印)。

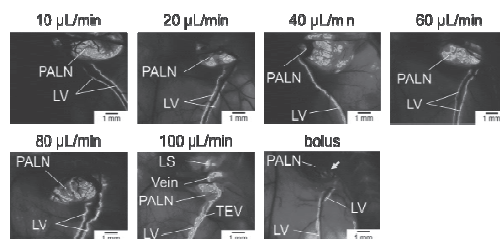


図1 各注入速度における代表的な二次元カラーマッピング画像

3. SiLN における蛍光色素注入時の圧力履歴および撃力値

FITC 修飾トマトレクチン注入時に，SiLNにおいて注入圧力をリアルタイムに計測した。図2に各注入速度における代表的な圧力履歴を示す。圧力履歴は各注入速度で異なっており，注入速度と下流側リンパ節への薬剤送達能とを比較検討するのは容易でないことが明らかとなった。そこで注入圧力の時間積分で定義される撃力値を用いて，注入速度と下流側リンパ節への薬剤送達能とを比較検討した (図3)。

10~100 $\mu\text{L}/\text{min}$ では撃力値はほぼ一定の値を示し、このとき上流側リンパ節に注入した薬剤は下流側リンパ節まで送達可能であることが示唆された。一方、bolus 投与では撃力値が顕著に減少し、10 $\mu\text{L}/\text{min}$ との間には統計的有意な差が認められた (** $P < 0.01$)。bolus 投与では、撃力値が減少したために、リンパ管内で生じる様々な圧力損失に抗して FITC 修飾トマトレクチンを下流側リンパ節に送達させることができなかったと考えられる。以上を踏まえ、リンパ行性薬剤送達法における至適注入速度は 10~80 $\mu\text{L}/\text{min}$ であることが示唆された。

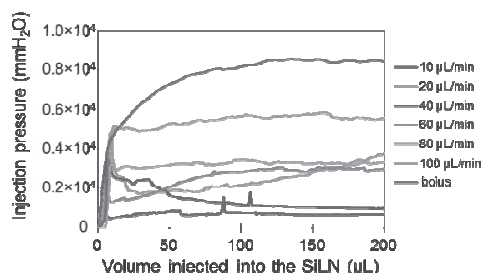


図2 各注入速度における代表的な圧力履歴

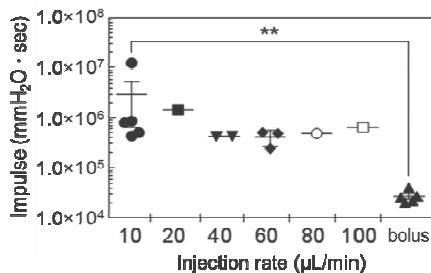


図3 各注入速度における撃力値解析

4. 蛍光免疫染色

FITC 修飾トマトレクチン注入終了後、PALN を生体外に摘出し、急速凍結したのちに 8 μm 厚の凍結切片を作製した。抗 LYVE-1 抗体を用いてリンパ内皮細胞を標識することで、PALN 内の FITC 修飾トマトレクチンの分布を可視化した。図4に、10, 60, 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ および bolus 群における PALN の代表的な蛍光免疫染色結果を示す。図中の赤色は血管内皮細胞、緑色は PALN に送達された FITC 修飾トマトレクチンを表す。注入速度の上昇とともに、SILN の下流側に位置する PALN において、FITC 修飾トマトレクチンの分布の減少が認められた。Bolus 投与では、一部の辺縁洞および実質にのみ FITC 修飾トマトレクチンの分布が認められた。したがって、下流側リンパ節における蛍光色素の分布は、上流側リンパ節における撃力値に依存することが示唆された。

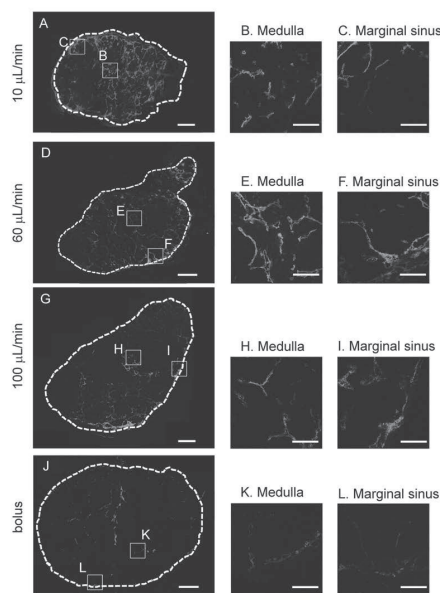


図4 蛍光免疫染色

5. まとめ

LDDS では、下流側リンパ節への薬剤送達能は注入圧力の積分値として定義される撃力値に依存することを明らかにした。また、リンパ行性薬剤送達法における至適注入速度は 10~80 $\mu\text{L}/\text{min}$ であることが示唆された。本研究の研究成果はリンパ行性薬剤送達法の臨床応用に大きく貢献するものである。

文献

- 1) Gaorav PG, Joan M. Cancer Metastasis: Building a Framework. *Cell* **2006**;127:679-95
- 2) Mumprecht V, Detmar M. Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **2009**;13:1405-16
- 3) Kodama T, Matsuki D, Tada A, Takeda K, Mori S. New concept for the prevention and treatment of metastatic lymph nodes using chemotherapy administered via the lymphatic network. *Scientific Reports* **2016**;6:32506
- 4) Shao L, Mori S, Yagishita Y, Okuno T, Hatakeyama Y, Sato T, *et al.* Lymphatic mapping of mice with systemic lymphoproliferative disorder: usefulness as an inter-lymph node metastasis model of cancer. *Journal of Immunological Methods* **2013**;389:69-78